滿江紅與固氮藍綠藻之研究

簡宣裕　林錫錦　李啓彰
臺灣省農業試驗所農化系

摘　要

滿江紅是一種水生蕨類植物，滿江紅科、滿江紅屬。滿江紅屬有6種：*Azolla caroliniana*、*A. filiculoides*、*A. mexicana*、*A. microphylla*、*A. nilotica*、*A. pinnata*。本省原有之滿江紅只有*A. pinnata*一種。滿江紅葉分裂爲上下兩片，上裂葉浮在水面有氣孔，葉內側有許多黏液小穴，裡面有共生之固氮藍綠藻*Anabaena azollae*。滿江紅可培養於不含氮源之無機培養液中，養分最需要的是磷，其次爲鐵。照光度以1200 Lux最適合。最適宜生長的pH爲4.5-7.0。本省原有之*A. pinnata*品種較適合之生長溫度爲15-30℃。滿江紅因有固氮藍綠藻與之共生，固氮能力極強，可與水稻共作，插秧前先於田間培養滿江紅，在插秧前整地時犁入土壤中可以當做綠肥。插秧後即接種滿江紅，可以抑制水稻田大部份的雜草，其效果與施用"馬上除"效果相似。

固氮藍綠藻有*Anabaena*、*Nostoc*、*Calothrix*等14個屬。固氮藍綠藻是同時具有光合作用和固氮能力的生物，構造上通常以單細胞或聚成群狀、絲狀存在，但絲狀時才有固氮能力。國內固氮藍綠藻以*Nostoc*、*Anabaena*爲主，本研究室曾對影響*Nostoc* spp.生長的環境因子加以研究，得知本土*Nostoc* spp.生長適當的溫度爲30至35℃，生長環境之酸鹼度低於pH7則生長不易，最適照光度爲7000-9000Lux，硝酸態(NO_3^-)氮比銨態(NH_4^+)氮較容易被吸收利用，銨離子濃度爲5mM時會抑制藻的生長，*Nostoc* spp.固氮藍綠藻對微量元素的依賴性很高，缺乏鐵、鈷、鉬、錳、硼、銅、鋅中任何一種元素，則完全不能生長，此藻於生長初期由培養液中吸取氮量，比經由固氮作用後所釋出之氮量爲多，待異型細胞囊出現較多，固氮活性激增後才可能釋出較多量氮素於水溶液中。將*Nostoc* spp.固氮藍綠藻接種於盆栽水稻中，具有相當於每公斤土壤施用0.2公克硫酸銨的肥效。

關鍵字：滿江紅、藍綠藻、固氮作用

前　言

滿江紅由於葉內有固氮藍綠藻*Anabaena azollae*共生，具有高固氮能力，其植體生長非常迅速，能與水稻共作，爲水田優良的綠肥，不佔空間很適合本省休閒期甚短之水稻栽培制度。固氮藍綠藻適合本省氣候的生長[12]，固氮藍綠藻同時具有光合作用和固氮作用的能力。本省能源蘊藏並不豐盛，又要消耗大量能源來製造化學氮肥，以供應農業生產上的需要，故如何減少化學氮肥的使用量，是值得探討研究的工作，而以滿江紅、固氮藍綠藻來減少水田化學氮肥使用量，在可見的未來甚具有前瞻性經濟價值。

滿 江 紅

一、滿江紅的分類地位、形態、習性

滿江紅爲水生蕨類植物，滿江紅科、滿江紅屬。屬內有六種，即1. *Azolla caroliniana*分佈於北美洲及歐洲，2. *A. filiculoides*分佈於美洲及歐洲，3. *A. mexicana*分佈於中美洲及北美洲，4. *A. microphylla*分佈於南美洲，5. *A. nilotica*分佈於非洲，6. *A. pinnata*分佈於亞洲、大洋洲及非洲[24]。本省現有滿江紅*A. pinnata*一種。

浮游於水面之多年生蕨類植物，水田、池塘、水溝及沼澤均可見。主要生長於亞熱帶及熱帶。植物體之大小依各品系之不同而異。植株之形狀亦依各不同種而異，例如*A. pinnata*呈三角形，*A. filiculoides*、*A. mexicana*及*A. microphylla*呈多邊形。莖著生根與葉，葉互生而排列成列，各葉分裂爲上下兩片，上側裂片浮於水面，有同化組織及氣孔，內側充滿許多黏液小穴，穴內有一種固氮念珠狀藍綠藻*Anabaena azollae*共生[32]。主要行無性繁殖。在秋冬低溫時，不耐寒之品系，植物體由綠轉紅，故名滿江紅，轉紅之原因主要是植物體產生紅色花色素(Red anthocyanin pigment)之故。6種不同種之滿江紅中，除了*A. nilotica*之外，其餘5種均會產生紅色花色素。當天氣寒冷或炎熱時會產生雌雄孢子，進行有性生殖。

二、環境因子對滿江紅生理的影響

滿江紅在有氮源及無氮源之培養液內都能生長，有氮源Tollens培養液比無氮源Tollens培養液較佳，20天後不但鮮重增加了二十多倍，體內含氮量也比原來要高。2ppm以上EDTA-Fe即可使滿江紅生長良好，5ppm EDTA-Fe最適合滿江紅。而不加EDTA-Fe時滿江紅鮮重仍能增加，不過增加的鮮重及固氮力都較差，而且培養後滿江紅株體變黃，含氮量降低甚多(表一)。

表一、不同濃度鐵(EDTA-Fe)對滿江紅生長之影響[5]

鐵濃度(ppm)	栽培之後的天數				培養後氮濃度[3]
	0 天		4 天		
	鮮重[1]	固氮活性[2]	鮮重	固氮活性	
0	0.3	95.2	0.66	73.2	3.8
2	0.3	100.1	0.83	124.6	4.6
5	0.3	92.3	0.83	131.6	4.9
10	0.3	84.4	0.78	123.8	—[4]
20	0.3	85.7	0.77	113.5	—

1. 鮮重，公克。
2. n mole C_2H_4/0.1g fw/hr.
3. 乾基。
4. 沒有資料。

本地種滿江紅其生長與增殖速度非常快，在接種後2星期內鮮重往往可增加爲原來的15～20倍。而在長滿水面後能繼續以疊層(multiple layers)的方式增殖。在溫室估計其疊層數在45天後爲4層左右，但田間估計在5-6層之間。

一般滿江紅對照光度很敏感，*A. pinnata*之固氮力在14klux至27klux間並無區別，而白天日照達80-90klux時*A. pinnata*固氮力明顯降低[14]。在黑暗情形下*A. pinnata*固氮力在一小時後即接近於0。Peters研究*A. caroliniana*時發現其固氮力在4840lux時即可呈飽和情形，顯然與*A. pinnata*有很大的不同[27,28]。本研究室試驗用之*A. pinnata*在9000 Lux照光度時固氮力頗佳，12000 Lux以上呈飽和情況(表二)。溫度方面據Watanabe[37]研究*A. pinnata*時發現在26℃/18℃，與31/24℃水溫時其生長情形都相差不遠，但在35/27℃時生長降低了50%左右。不過越南農民所用之*A. pinnata*在溫度超過22-24℃即會死亡[14]，兩者耐熱能力差異甚大。滿江紅對低溫適應性亦差，*A. filiculoides*在20℃以下則生長不好，*A. pinnata*在印度無法以株體越冬[14]。

表二、照光度對滿江紅(*Azolla pinnata*)之影響[5]

照光度	栽培後天數				
	0 天			3 天	
(Lux)	鮮重[a]	固氮活性[b]		鮮重[a]	固氮活性[b]
0	0.30	90.4[c]	14.7[d]	0.24	0.0
1000	0.30	92.1	53.4	0.45	63.8
3000	0.30	87.5	80.0	0.52	98.2
6000	0.30	97.0	94.7	0.61	98.0
9000	0.30	97.0	98.4	0.66	116.8
12000	0.30	90.0	—	0.70	126.2
15000	0.30	102.3	—	0.71	128.6

a.鮮重，克。

b.n mole C2H4/0.1g fw/hr。

c.照光處理前。

d.照光處理後。

表三、溫度對滿江紅(*Azolla pinnata*)生長之影響[5]

照 度 (℃)	開始時滿江紅鮮重 (克)	滿江紅生長3天後 鮮重 (克)
15	0.30	0.40
20	0.30	0.58
25	0.30	0.84
30	0.30	0.70
35	0.30	0.50
40	0.30	—[a]

a.滿江紅死亡。

IRRI於1987年[20]研究報告指出*A pinnata*在日夜溫度37/29℃高溫下生長速度及單位面積固氮量都要比*A. filiculoides*及*A. mexicana*好得多。但在29/21℃下*A. filiculoides*生長情形比*A. pinnata*略好。不過就田間養殖而言，*A. pinnata*在之生長情形似乎較*A. filiculoides*爲優。

不耐熱帶、亞熱帶地區夏季高溫及不耐亞熱帶、溫帶地區冬天低溫，是一般使用滿江紅之主要限制因子[25,26,29,37]。本地種*A. pinnata*(Da Li, Taiwan)對夏季高溫之反應相當良好，在水溫25-40℃下21天內鮮重可增加25倍 以上，除非夏季特別炎熱(水溫超過42℃)，易生蟲害及熱害，否則本省二期作使用本地種滿江紅可不必顧慮高溫問題。本省雖然地處亞熱帶，冬天寒流來襲時氣溫降到8℃左右，不耐寒之品系如*A. pinnata*(Fuchow,China)、*A. mexicana*(California, U. S. Aa.)及*A. mexicana*(Guiana)等品系於冬季生長停頓，全部變紅，含氮量極低，不適合於一期作前養殖滿江紅當作基肥使用，而本地種*A. pinnata*(Da Li, Taiwan)及*A. microphylla*(Paraguay)很耐寒，元月份氣溫最低時仍然長得很濃綠，且繁殖迅速疊層水面，冬天又無蟲害問題，因此本省一期作使用本地種滿江紅亦不必顧慮低溫問題[2]。不過既然滿江紅各品種及品系間對溫度適應有差異，也許尋找或培育出耐高溫及耐低溫品系分別供應一、二期作之需要將是比較實際之方法[3]。在pH值適應方面，本研究室試驗所用之*A. pinnata*適應範圍在4.5-8.5之間，而以5.5最佳，與Watanabe之結果[37]相似。

一般生物性固氮材料並不適合與化學氮肥一起施用[15,22]，而有關滿江紅的研究中亦曾報導化學氮肥會使滿江紅生長情形變差[14]。目前本省常用的化學氮肥太多[1]，不利於滿江紅生長。硫酸銨對滿江紅之影響要比其他化學氮肥來得輕，而且若在N 18kg/ha用量以下，配合P_2O_5 20kg/ha至40 kg/ha之過磷酸鈣使用，則不但不影響滿江紅之固氮力，甚至對滿江紅鮮重之增加還能有所幫助(表四)。因此滿江紅與水稻之共作系統中，若須施用化學氮肥時，可以每次以18kg/ha之硫酸銨配合P_2O_5 20kg/ha至40Kg/ha之過磷酸鈣一起施用，來保持滿江紅生物固氮功能。另外，供試5種含不同陰離子銨鹽中除硝酸銨及氯化銨外，其他三種對滿江紅都有致死情形(表五)，因此化學氮肥對滿江紅致死作用可能與其陰離子有很大的關係。不同性狀土壤不但影響滿江紅之生長，而且也影響滿江紅對磷肥之反應。滿江紅在酸性土壤中生長情形要比鹼性土壤佳[33,36]。本研究室所用之滿江紅*Azolla pinnata*最適範圍在5.5左右，其對不同性狀土壤之反

表四、硫酸銨及過磷酸鈣用量對滿江紅鮮重產量之影響(6)
(滿江紅接種量: 0.5公克，生長期: 21天)

氮施用量 (Kg/ha)	P_2O_5施用量(Kg/ha) 80		40		20		0	
	S[a]	I[b]	S	I	S	I	S	I
54	3.1[c]	4.0	7.1	6.9	4.2	4.2	4.2	4.2
36	4.9	5.5	9.2	8.5	7.4	6.7	5.7	7.1
18	6.6	5.5	9.3	8.7	8.2	7.7	5.1	7.0
0	5.0	5.0	7.6	8.2	9.5	8.6	4.9	對照

a: 肥料施於土壤表面。

b: 肥料混入土壤裡面。

c: 滿江紅濕重，公克。

表五、銨鹽之不同陰離子對滿江紅生長之影響(6)

銨鹽種類 (含N 45Kg/ha)		鮮重產量(公克)+ 0 天	5 天	12 天
硝酸銨	NH_4NO_3	4	13.7	33.2
氯化銨	NH_4Cl	4	11.3	33.3
醋酸銨	CH_3COONH_4	4	5.0	9.8
碳酸銨	$(NH_3)_2CO_3$	4	—[++]	—
檸檬酸銨	$(NH_4)_2C_6H_{12}O_6$	4	—	—

\+ 每盆面積35x28公分。

++ 滿江紅不能生長。

應偏好酸性土壤(5)。在加施磷肥後，發現滿江紅在酸性粘板岩沖積土中對磷肥反應最佳，而在鹹性粘岩沖積土中對磷肥反應最差，甚至有類似毒害的情形發生(5)。

由試驗結果及工作經驗知道，水深亦影響滿江紅生長甚鉅。在酸性粘岩沖積土之情況下，3公分以上的土水方使滿江紅反應出最好的磷肥效用(表六)。而以田間實際養殖之情形而言，若水深不足以使滿江紅飄浮，則滿江紅之生長速率甚慢，無法在同一期間內達到一般飄浮情形時之滿江紅鮮重量，因而會嚴重影響田間的養殖。

表六、不同水深對滿江紅生長之影響[6]

水深 (公分)	鮮重產量 (公克)			N %*
	0天	7天	14天	14天
1	4	19.2	41	3.05
3	4	30.1	56	4.07
6	4	31.4	58	3.34

* 乾基百分率。

田間養殖滿江紅最重要的肥料是磷肥，其適當用量在P_2O_5 7.5kg/ha至15kg/ha間[18,19,33]。本研究室試驗用之滿江紅*A. pinnata*在P_2O_5 15kg/ha下有相當好的產量。氮肥配合磷肥使用稍可提高滿江紅產量，但提高的產量有限，似不經濟，而且氮肥經常使用時會促進其他雜草生長，而不利於滿江紅，因此就滿江紅養殖而言，可不必添加氮肥[6]。

三、滿江紅固氮之肥效及抑制稻田雜草

肥效試驗結果，滿江紅共作者與不施氮肥區比較，事實上並無顯著差異，但滿江紅拌入土中當基肥然後配合滿江紅共作，則肥效與N 60kg/ha相同或接近N 100kg/ha(表七)。因此顯然可看出滿江紅之肥效主要是來自拌入土中滿江紅鮮體，這亦在其他的研究中被證實過[37]。滿江紅覆蓋水面或土面對減少化學氮肥之逸失應有相當的助益，此由滿紅紅共作配合化學氮肥N 60kg/ha的肥效與N 100kg/ha者相似，可以得到旁證。滿江紅*A. pinnata*當基肥使用(含N 47kg/ha)，其肥效比施化學氮肥N 60kg/ha之處理者較優(表八)，可能因爲施用化學氮肥容易流失或易被脫氮細菌進行脫氮作用而逸失，而滿江紅當基肥之肥效是緩慢性的，以及滿江紅還含有其他有機物質及有益水稻之營養分如磷素等[2]。

插秧後即接種滿江紅，由於滿江紅生長迅速疊覆水面，對大部份水田雜草都有抑制的作用，其防治雜草之效果與施用「馬上除」殺草劑相似[2,23]。Moore、Rains及Talley也報導滿江紅能抑制水田雜草之生長[25,29,35]。在滿江紅共作之各試驗區於試驗期間內，除鴨舌草與雙雀稗草偶有發現外，其他水田雜草甚少發生(表九)。在共作期間由於水稻植被能迅速覆蓋空間，自有防草功能，因此不必再有任何防草工作。故利用滿江紅做爲水田雜草之生物防治，在今後水田作物栽培上將有很實用的價値。又滿江紅蛋白質含量高達35%[29]，經本實驗室以氨基酸分析儀測定後，發現含有多種不同的氨基酸成分，雞、鴨及豬嗜食之。將來可利用水田養殖滿江紅作爲飼料，或滿江紅與水稻共作長滿水面時，既可以抑制雜草之生長，又可當飼料讓鴨群到稻田裡喂食之[24]。

表七、本地耐熱又耐寒品種*A. Pinnata*對水稻之肥效試驗[2]

處　　理	稻穀產量（公斤/公頃）	
	70年二期作	71年一期作
施氮肥100公斤/公頃	5121	5350
施氮肥60公斤/公頃 +滿江紅共作	5090	4650
滿江紅當基肥 +滿江紅共作	5040	4916
施氮肥30公斤/公頃 +滿江紅共作	4292	4016
滿江紅共作	4064	3916
無氮區	3718	3900

鄧肯氏新多重變域分析5%顯著水準。

表八、耐寒品種滿江紅大面積肥效試驗對水稻穀產量之影響[2]

處　　理	穀產量(公斤/公頃)	指　數
化學氮肥全量區 (N 120 Kg/ha)	6438	100
化學氮肥半量區 (N60Kg/ha)	5464	85
掩施*A. pinnata* (Da Li, Taiwan)	6044	94
掩施*A. microphylla* (Paraguay)	5396	84

表九、滿江紅與水稻共作對稻田雜草抑制之效果(水稻一期作)[2]

處　理	雜草相及雜草數(株)/0.5m^2 (三重複之平均)					穀產量 公斤/公頃
	鴨舌草	螢蘭	紅骨草	稗草	球花篙草	
不接滿江紅，不施殺草劑	723	114	33	17	8	4998
接種滿江紅100 g/m^2，不施殺草劑	55	48	6	0	0	6603
接種滿江紅200 g/m^2，不施殺草劑	41	18	14	3	0	5921
接種滿江紅300 g/m^2，不施殺草劑	21	9	2	0	0	6272
不接滿江紅，施用殺草劑「馬上除」30Kg/ha	53	11	0	0	0	6736

滿江紅爲本地種*A. pinnata* (Da Li,Taiwan)
雜草相及雜草數於插秧接種滿江紅一個月後調查。

固氮藍綠藻

一、固氮藍綠藻分類及構造

固氮藍綠藻有*Anabaena*、*Anabaenopsis*、*Aulosira*、*Chlorogloea*、*Cylindrospermum*、*Nostoc*、*Calothrix*、*Scytonema*、*Tolypothrix*、*Fischerella*、*Hapalosiphon*、*Mastigocladus*、*Stigonema*、*Westelliopsis*個品種。在構造上，它是可以單細胞、成聚落及絲狀存在但是只有絲狀藍綠藻具有固定空氣中氮的能力。在細胞質之色質體內分佈有c-Phycocyanin (藍色素)、c-Phycoerythrin(紅色素)、β-Carotene、Xanthophylls等色素，這些色素的組合則形成特有的固氮藍綠藻顏色[38]。

由一般增殖生長細胞(Vegetative cell)可以發育成具有厚壁且失去細胞內容物的異型細胞囊(Heterocysts)，異型細胞囊就是固氮藍綠藻固定氮素的地方。固氮藍綠藻可以和眞菌聯合共生(Association with fungi)形成地衣，及和苔蘚植物、蕨類、裸子植物、被子植物聯合共生[38]。

本省分離純化得到的固氮藍綠藻大多屬於*Anabaena*及*Nostoc* 2種[12,34]。

二、環境因子對本省*Notoc* spp.(HN 501)固氮藍綠藻的影響

固氮藍綠藻於不同溫度下培養10天後，由試驗結果知道生長於15℃至20℃時比較不合適，於30℃至35℃最有利藻的繁衍，此株藻對溫度的適應性，以夏季型高溫氣候較能適應，而以春冬溫度較低氣候不合適藻的生長[8,12,13]。培養液之酸鹼度低於pH7時此株藻生長受到抑制，此時

藻株顏色由原來之綠色變成黃綠色、黃色，pH低於3以下之酸性培養液，此株藻完全不能生存，培養液之pH介於8至9之間最合適此藻生長。臺灣一般水田土壤水溶液pH低於7以下，不適合此株藻的生長[13]，只有加入適當量之碳酸鈣或其他石灰性物質於水田中以提高pH值，才能提供HN 501藻株較適合的生存環境，使藻族群能茂盛的生長。

固氮藍綠藻接種於培養基後，放置在1000、3000、5000、7000、9000Lux照光度下進行培養試驗，得知1000Lux至5000Lux低照光度時生長緩慢，當照光度超過5500Lux，則藻的生長勢顯著地增加，而於7000Lux至9000Lux時達到最高點。由溫度、pH、照光度之試驗結果，可以知道此株固氮藍綠藻生長最適環境條件是溫度30℃至35℃、pH介於8至9之間、照光度7000Lux至9000Lux[13]。

此株藻對於硝酸態氮較喜歡，銨態氮則有抑制生長的情形。5mM硝酸態氮時可得到較高藻產量，當銨態氮濃度爲10 mM則此藻便完全沒有生存的機會了(表十)。雖然此株藻可由空氣中固定氮素來維持生命狀態，但藻族群生長不旺盛，故添加外來之化學氮源於培養液中，可有效地促進藻族群的繁衍[16,21]。

表十、氮源及其濃度對HN 501固氮藍綠藻產量的影響(mg/pot)[13]

濃度	硝酸態氮	銨態氮	L.S.D.	
			5%	1%
0.5mM	183	61	6	13
1 mM	203	60	17	40
5 mM	227	32	38	87
10 mM	225	0	33	76

HN 501固氮藍綠藻缺乏鐵、鈷、鉬、錳、硼、銅、鋅中任何一種元素，則完全不能繁殖，但培養液用自來水或地下水配製時，在沒有加入微量元素的情況下仍然可以使此株藻正常的生長，故由此可知本省大部份灌溉水及土壤中之微量元素含量，足以供給此株藻生長發育，藻生長於水田中而缺乏微量元素的可能性是很小。

固氮藍綠藻0.9cm^2接種於250ml三角瓶內，水平面面積爲30.9cm^2，經過84小時後，藻便可長滿整個水平面。故可估計此株藻在環境條件良好情況下，每隔16.5小時便可以增長1倍。HN 501固氮藍綠藻生長4天後，整瓶藻的固氮活性爲4070 n mole, N_2 fixed/flask.hr，此時藻剛長滿三角瓶水平面，藻取樣於顯微鏡下觀察，幾乎沒有異型細胞囊出現，水溶液中氮濃度由原來之2.5 mM減少變爲2.1 mM(表十一)。藻生長至第6天時整瓶固氮藍綠藻固氮活性增至8100 n mole N_2 fixed/flask.hr，水溶液氮濃度爲1.3 mM，異型細胞囊出現百分率爲7.9%，至第8天時瓶內藻之固氮活性最高可達9200 n mole N_2 fixed/flask.hr，於第11天時固氮活性迅速減少只有5364 n mole N_2

fixed/flask.hr。此藻生長特性是當藻長滿水面時，藻的增長便停止，然後經過5天後藻便迅速老化，開始有部份藻下沉於盆底的現象。故可確知此藻於增殖生長期的時候由外界水溶液中吸取氮素量比所釋放出之有機態氮[38]量多，此時異型細胞囊少，固氮活性小，待增殖生長期完成後，異型細胞囊出現較多時，固氮活性可以激增，當藻老化分解後才可能釋出氮素供給作物利用。

表十一、培養液中氮濃度變化[13]

天　數	氮濃度 (Mole/L)
原　液	2.5
4　天	2.1
6　天	1.3

三、固氮藍綠藻對水稻產量之影響

氮肥對於植物的生長是有利的，故當土壤沒有外來的氮源施入的話，往往於栽培作物時，發覺主作物生長不良，產量降低的情形。由表十二的資料得知水田土壤接種固氮藍綠藻時稻穀產量皆比沒有施氮肥對照處理者好，表示固氮藍綠藻固定空氣中氮素，對於水稻稻穀產量皆有正面好的影響。雖然9種固氮藍綠藻，用乙炔還原法測定固氮能力時，其相互間並無顯著差異[11]，但當分別接種於水田土時，對於水稻稻穀產量卻有不同程度的影響，而以HN 801藻種最好，幾乎可以有施用半量氮肥的效果，稻穀產量指數可達到不施氮肥且不接種固氮藍綠藻處理之145%。其他8種固氮藍綠藻對稻穀產量有利影響之秩序如下：HN 601、HN 701、HN 501、HA 601、HA 301、HA 701、HN 206、HN 101(表十二)。其所以有上述差異之情形，可能之原因諸如：1. 水田土壤生物環境與實驗室不同，水田土壤生物相存在著多種可以攻擊藍綠藻族群之藍綠藻噬菌體、黏液細菌、寄生性眞菌、原生動物和水生昆蟲，會抑制固氮藍綠藻族群[12,17]，而9種藻株對於水田生物相之生物性攻擊，其抵抗的能力有大小之分。2. 固氮藍綠藻對於環境因子如光照強度、日照長度、溫度、pH、氧化還原狀態之適應能力不同[7,8,9,10,11,12,16,31]，故因而導致固氮藍綠藻族群、固氮能力也就大小不一，如此促使其對水稻稻穀產量的影響力不同，HN 101、HN 206、HA 701此三種固氮藍綠藻於水田土中可能受此二因子影響很大，故水稻稻穀產量幾乎等於對照處理者。

儘管固氮藍綠藻對於水稻株高、穗數、稻穀產量皆有好的影響[4]，但是對於整個水稻生長期而言，由固氮藍綠藻供給之氮肥是有限的，必須於栽培管理時，加入適量及適時的外來氮源。因固氮藍綠藻於中性、微鹼性環境(pH7.5～10)下較易生長[13]，固氮能力較強，而於酸性環境中

表十二、氮肥用量及固氮藍綠藻++對稻穀產量之影響(4)

處　　理	穀重(克／盆)+	指數(%)
全量氮肥	11.9	216
半量氮肥	18.6	156
無	5.5	100
HN 101	5.7	103
HN 206	6.0	109
HN 501	6.8	124
HN 601	7.1	129
HN 701	7.0	127
HN 801	8.0	145
HA 301	6.4	116
HA 601	6.4	116
HA 701	6.0	109

+ 每盆風乾土壤3公斤。++ 固氮藍綠藻由中央研究院黃檀溪博士提供試驗。
全量氮肥用量: 硫酸銨1.2公克/盆。
半量氮肥用量: 硫酸銨0.6公克/盆。

固氮藍綠藻族群生長受抑制，若將固氮藍綠藻接種於中性或鹼性土壤時，對水稻全期生長的有利影響可能會增大。一般而言，固氮藍綠藻在照光度爲1000～2000 Lux時就開始生長而在超過10000 Lux時固氮藍綠藻生長便受限制，屬於低照光度類植物[12,30]，又因水稻田耕犁灌水後矽藻及綠藻首先建立起族群，隨後固氮藍綠藻才出現[30]，故欲接種固氮藍綠藻於水田時，則時間應往後延，待矽藻及綠藻形成之後再接種，利用其陰影來減少日照強度，以使固氮藍綠藻有較好的生長環境。

銨濃度於超過0.05%時即無法生長[7,11]。故水田土壤，若於氮肥施用時皆連用硫酸銨，則固氮藍綠藻會在含有大量硫酸銨的環境下受到抑制。所以將固氮藍綠藻接種於中性、微鹼性水田中，接種時間爲水稻田耕犁、浸水一段時期間後，配合施用少量尿素氮肥，其對水稻生長、產量有利的影響或許可以顯著的提高，關於此方面的試驗有待進一步的探討與研究。

參考文獻

1. 林家棻、張愛華、曾肇清 1973 臺灣主要土壤含氮狀況與其供應情形。農業研究 22:186-203。

2. 林錫錦 1983 水田滿江紅固氮之肥效及抑制稻田雜草之研究。中華農業研究 32(4):348-359。

3. 林錫錦 1981-1983 本省耐寒及耐熱滿江紅品系之篩選。(Personal communication)

4. 林錫錦、簡宣裕 1983 固氮藍綠藻對水稻生長之影響。七十二年度農林廳各試驗場所試驗研究報告第314-324頁。

5. 李啓彰、林錫錦、林家棻 1981 水田滿江紅*Azolla pinnata*之研究I，環境因子對滿江紅生長之影響。中華農業研究 30:405-411。

6. 李啓彰、林錫錦、林家棻 1982 水田滿江紅*Azolla pinnata*之研究II，土壤與肥料因子對滿江紅生長之影響。中華農業研究 31(3):225-234。

7. 莊允當 1983 藍綠藻培養之條件及初步應用於土壤試驗。台灣糖業研究所研究彙報 99:47-54。

8. 黃啓穎、張晉華、王傳釗 1982 台灣蔗田之固氮藍綠藻。台灣糖業研究所研究彙報 97:49-55。

9. 黃啓穎 1977 藍綠藻之固氮作用。科學農業 25(9-10):280-286。

10. 黃啓穎 1980 藉藍綠藻固氮取代化學含氮肥料施用可能遭受難題。科學農業 28(7-8):284-285。

11. 黃檀溪、吳海揚 1981 影響藍綠藻族群消長之生物因子。科學發展月刊 9(1):51-59。

12. 黃檀溪 1982 水田固氮藍綠藻之生態探討。科學發展月刊 10(7):619-631。

13. 簡宣裕、林錫錦 1987 環境因子對HN 501 藍綠藻生長的影響。中華農業研究 36(1):67-93。

14. Becking, J. H. 1979. Environmental requirements of Azolla for use in trorpical rice production. In:Nitrogen and Rice 345-375. IRRI.

15. Edwards, D. G. 1975. Nutritional factors limiting nitrogen fixed by Rhizobia. In Biological Nitrogen Fixation in Farm Systems of the Tropics. Edited by Ayanaba, A. and Dart, P. J. pp.189-204.

16. Hung, T. C. and Wu, H. Y. 1982. Predation of Amoebae on the filamentous Blue-Green Algae. Bot. Bull. Academia Sinica 23:63-70.

17. Hung, T. C. Establishment of nitrogen-fixing blue-green algae in the rice field. Proceedings of ROC-Japan seminar on promoting nitrogen fixation in agriculture. pp.67-73.

18. IRRI. 1976. Annual report for 1976. pp.232-233.

19. IRRI. 1977. Annual report for 1977. pp.287-288.

20. IRRI. 1978. Annual report for 1978. pp.245-246.

21. John, C. M., John, C. S. and Enderling, C. S. 1983. Regulation of expression of nitrate and dinitrogen assimilation by A*nabaena* species. Applied and environmental microbiology 45(4):1351-1359.

22. Kafer, N. 1975. Non-symbiotic nitrogen fixation in tropical humid soils, with particular reference to Nigeria. In:Biologica a Nitrogen Fixation in Farm Systems of the Tropics. Edited by Ayanaba, A. and Dart, P. J. pp.267-272.

23. Lee, C. C. and Lin, C. J. 1981. The possibility of using azolla as a source of nitrogen for rice in Taiwan. Soil and Fertilizers in Taiwan 1980-1981:35-43.

24. Lumpkin, T. A. and Plucknett, D. L. 1980. Azolla:botany, physiology and use as a green manure. Economic Botany 34:111-153.

25. Moore, A. W. 1969. Azolla: biology and agronomic significance. The Bot. Rev. 35:17-34.

26. Newsweek. July 18, 1983, pp.26-35.

27. Peters, G. A. 1977. The Azolla-*Anabaena azollae* Symbiosis In: Genetic Engineering for N_2-fixation. pp.231-258. Edited by Alexander, I. J. and Hollaender, D. A. Plenum press, New York and London.

28. Peterss, G. A., Evans, W. R., and Toia, Jr. R. E. 1976. Azolla-*Anabaena azollae* relationship. Plant Physiology 58:119-126.

29. Rains, D. W. and Talley, S. N. 1979. Use of azolla in north American In: Nitrogen and Rice. pp.417-431. IRRI.

30. Rogen, P. A. and Reynaud, P. A. 1979. In:Nitrogen and Rice. pp. 287-310.

31. Roger, P. A. and Kulasooriya, S. A. 1980. Blue green algae and rice. The international rice research institute. LosBoas, Philippines.

32. Shen, Y. F. 1960. *Anabaena azollae* and its host *Azolla pinnata*. Taiwania 7:1-7.

33. Singh, P. K. 1979. Use of azolla in rice production in India. In : Nitrogen and Rice. pp.407-418. IRRI.

34. Stainer, R. Y., Kunisawa, R., Mandel,M., and Cohen-Bazire, G. 1971. Purification and properties of unicelluar bluue-green algae. American Soic. of Microbiology 35:171-205.

35. Talley, S. N. and Tolley, B. J. 1979. Nitrogen-fixation by azolla in rice fields. In: Genetic Engineering for N_2-fixation. pp.259-281. Edited by Alexander, I. J., Hollaender, D. A. et al. Plenum press, New York.

36. Tuan, D. T. and Thuyet, T. Q. 1979. Use of azolla in rice production in Vietman. In: Nitrogen and Rice. pp.395-405. IRRI.

37. Watanabae, I., Espinas, C. R., Berja, N. S. and Alimagno, B. V. 1977. Utilization of the Azolla-*Anabaena* complex as a nitrogen fertilizer for rice. IRRI. Res. Pap. Sev. 11. pp.15.

38. William, D. and Stewart, D. 1966. Nitrogen fixation in plants. Lecture in Botany at Westfield College, University of London. pp.58-70.

討　論

台中區農改場黃秀華問:

為何目前滿江紅和藍綠藻之固氮功用沒有在推廣?

省農試所助理研究員簡宣裕答:

第一、滿江紅不是固氮是藍綠藻在固氮,這個觀念要搞清楚。第二、這牽涉到整體效益和一般耕作方式的問題,一般來講現在比較講求省工,不願意再花時間在水田中培養這個東西,要在兩期作中培養出藻類。花這些功夫下去跟施用化學氮肥算一算是否合算。一般來講在勞力密集的國家也可以推行,在另一方面在耕作制度下如果說農藥施用太多的話, 會抑制它的生長。在台灣目前這種耕作制度、經濟情況下,要農民來接受這個, 推行上還有一段距離,或許在以後氮肥缺少,或為了保育環境這觀點來推行的話是可形的。目前來說整個經濟效益,整體收入還是不合算的。

糖研所李松伍問:

固氮藍綠藻在旱田有無作用?

省農試所助理研究員簡宣裕答:

在美國及貴所有做過類似固氮藍綠藻旱田這方面的研究,發覺有相當的功能。一般來講,在它的品系與品種方面應該是*Nostoc*和*Anabaena*最主要的。功能的話,在甘蔗根部其中選擇一些固氮的活性。

中興大學土壤研究所王銀波所長問:

微量元素對滿江紅固氮有影響,一般了解Fe、Mo、Cu對固氮有影響,其它還有那些微量元素有影響?

省農試所助理研究員簡宣裕答:

錳和鋅。

Studies of *Azolla* and Nitrogen-fixing Cyanobacteria

S. Y. Chien, C. J. Lin, and C. C. Lee
Soil Microbiology Lab, Department of Agricultural Chemistry, Taiwan Agricultural Research Institute, Wu-feng, Taichung, Taiwan, R.O.C.

Abstract

Azolla is an aquatic fern, belonging to Azollaceae and there are six species, namely *Azolla carolinana, A. filiculoides, A. mexicana, A. microphylla, A. nilotica, and A. pinnata*. *Azolla pinnata* is the only species native to Taiwan. Under the leaflets of *Azolla*, there are many cavities filled with viscous liquid and inside of which *Anabaena azollae*, a symbiotic, nitrogen-fixing cyanobacteria inhabits.

Due to the presence of *Anabaena azollae*, *Azolla* can be grown in nitrogen-free selective medium. However, phosphorus and iron are necessary elements in the grwoth of *Azolla*. The suitable conditions for *Azolla* growth include 12000 Lux of illumination intensity, pH 4.5-7.0 and temperature 15-30℃.

Azolla can be applied to paddy rice field for growth and then, incorporated in the soil as green manure. The growth of *Azolla* can inhibit weeds growing among rice seedlings, therefore it can be used as herbicide.

Nostoc and *Anabaena* are the most important groups of nitrogen-fixing cyanobacteria in Taiwan. In morphology, they are unicellular, colonial or filamentous. However, only filamentous clusters of cyanobacteria show nitrogen-fixing ability. The most suitable growth conditions for *Nostoc* are suggested as following: (1) temperature between 30 and 35℃, (2) pH >7, (3) illumination intensity 7000-9000 Lux. Nitrate is more favorable than ammonium, since ammonium could be toxic to cyanobacteria, if concentration is more than 5 mM. The *Nostoc* spp. could not grow independently without microelements such as iron, cobalt, molybdenum, manganese, boron, copper,and zinc.

At the early growth stage, *Nostoc* consumed large amount of nitrogen for cellular growth. When the nitrogen level in the culture medium falls, numerous amount of heterocysts could be induced to form. Because heterocysts have the capacity to fix nitrogen from the atmosphere, *Nostoc* could release more nitrogen into the medium. In the pot cultures with rice, *Nostoc* had the same nitrogen efficiency as 0.2 gm $(NH_4)_2SO_4$/Kg soil.